



Operationen am offenen Genom – mögliche Anwendungen der CRISPR/Cas-Genschere in der klinischen Medizin

Vortrag im Rahmen des Bioethik-Symposiums der BWG am 08.10.2020 in Braunschweig

JÜRGEN KRAUTER

Städtisches Klinikum Braunschweig, Medizinische Klinik III, Hämatologie und Onkologie

Im Jahr 2020 erhielten die Forscherinnen Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna gemeinsam den Nobelpreis für Chemie für die Entdeckung der CRISPR/Cas-Genschere. Im Vortrag sollen mögliche Anwendungen für diese molekulargenetische Methode in der klinischen Medizin beschrieben werden.

In der eukaryontischen Zelle ist der Bauplan für die Eiweiße (Proteine) in der (Desoxy-) Ribonukleinsäure (DNA) im Zellkern festgelegt. Die DNA besteht aus einer Abfolge von sogenannten Basen. Diese DNA-Sequenz wird im Rahmen der Eiweißbildung in eine Boten-Ribonukleinsäure (mRNA) umgeschrieben und anhand dieser Matrize werden dann in den sogenannten Ribosomen die Proteine synthetisiert. Dabei codieren jeweils drei aufeinanderfolgende Basen für einen Eiweißbaustein (Aminosäure). Dieser Genetische Code ist für alle Lebewesen auf der Erde universell gültig.

Durch Fehler in der DNA-Sequenz (Mutationen) kann es zu einer Bildung fehlerhafter Proteine kommen. Die Art der Mutationen ist dabei vielfältig und reicht vom Austausch einzelner DNA-Basen („Punktmutation“) bis zum Verlust größerer DNA-Abschnitte.

Nicht alle diese Mutationen wirken sich auf Gestalt oder Funktionsfähigkeit (Phänotyp) des betroffenen Lebewesens aus. Häufig sind aber Mutationen auch die Ursache für Krankheiten. Man unterscheidet hierbei zwei große Gruppen von Mutationen: Keimbahnmutationen sind in den Keimzellen entstanden und können deshalb an Nachkommen weitervererbt werden. In diesen Nachkommen sind die Mutationen dann in allen Körperzellen vorhanden. Deshalb sind Keimbahnmutationen die Ursache für typische Erbkrankheiten wie Bluterkrankheit (Hämophilie), Störungen der roten Blutbildung (Sichelzellanämie, Thalassämie) und viele andere. Insgesamt sind mehr als 4000 betroffene Gene mit fast 6000 zugehörigen Erkrankungsausprägungen beschrieben. Im Gegensatz dazu entstehen sogenannte somatische Mutationen im Laufe des Lebens in einer Körperzelle und werden nur an deren Tochterzellen weitergegeben. Damit sind diese Mutationen nicht vererbbar. Somatische Mutationen sind häufig die Grundlage für bösartige Erkrankungen wie Leukämien oder solide Tumoren.

In der klinischen Medizin wird schon seit Jahrzehnten versucht, genetisch bedingte Erkrankungen zu therapieren, indem der zugrundeliegende Gendefekt möglichst zielgenau „repariert“ wird. Als Paradigma hierfür gelten Bluterkrankungen aus folgenden Gründen: 1.) Die betroffenen Zellen können aus dem Blut oder Knochenmark sehr leicht gewonnen und isoliert werden. 2.) Blutzellen können leicht außerhalb des Körpers kultiviert und verändert werden. 3.) Oft reicht eine teilweise Korrektur des Gendefektes, um eine ausreichende Funktion der Blutbildung wiederherzustellen.

Frühe Formen der Gentherapie beruhten auf dem Prinzip, dass die normale genetische Information für das mutierte Gen durch sogenannte Vektoren (meist ein Virus) in die betroffene



Zelle eingeschleust wurde. Dort sollte diese neue genetische Information zur Bildung des normalen Proteins genutzt und damit die Auswirkung der Mutation zunichtegemacht werden. Problematisch an dieser Technik ist, dass die Vektoren die genetische Information nicht zielgerichtet, sondern an irgendeiner Stelle des Genoms einbauen. Dadurch unterliegt die Bildung des Proteins nicht den normalen Regulationsmechanismen; außerdem können vorher normale Abschnitte der DNA durch den Einbau des Vektors beschädigt werden. Als Folge hiervon kam es in den frühen Phasen der Gentherapie teilweise zu Leukämieerkrankungen bei den Patienten als Folge der DNA-Schädigung durch die Vektoren. Die Anforderung an eine möglichst effiziente und nebeneffektfreie Gentherapie ist deshalb, dass die korrekte genetische Information möglichst zielgerichtet an der richtigen Stelle des Genoms wiederhergestellt wird.

Hierfür eignet sich die CRISPR/Cas-Genschere in hervorragender Weise. Mit dieser Methodik wird die Genschere über eine komplementäre Nukleinsäuresequenz zielgenau an den richtigen Ort im Genom gelotet. Dort kann dann die genomische DNA durch das Cas-Enzym modifiziert werden. Hierfür stehen mittlerweile verschiedene Cas-Varianten zur Verfügung. Diese können u.a. die Ziel-DNA zerstören (nonhomologous end joining, NEJ), Punktmutationen reparieren (base editing) oder längere DNA-Abschnitte anhand einer integrierten Nukleinsäure-Matrize verändern (prime editing). Hierdurch eröffnen sich praktisch unbegrenzte Möglichkeiten der DNA-Modifikation.

In der klinischen Medizin gibt es bereits einige Beispiele für den Einsatz der CRISPR/Cas-Technologie. Teilweise werden bereits Patienten in klinischen Studien behandelt. Ein Fokus dieser Studien ist die Behandlung von Patienten mit angeborenen Störungen der Bildung der roten Blutkörperchen, insbesondere Sichelzellanämie und Thalassämien. Bei beiden Erkrankungen kommt es durch Keimbahnmutationen zu einer gestörten Bildung der Beta-Kette des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin. Diese gestörte Hämoglobinfunktion wirkt sich in vielfältiger Weise auf den Körper aus und führt zu schweren Krankheitserscheinungen und lebenslanger Beeinträchtigung. Die Therapie dieser Erkrankungen macht sich zunutze, dass es neben der Beta- auch noch eine Gamma-Kette des Hämoglobins gibt. Diese wird normalerweise nur beim Fetus im Mutterleib gebildet. Nach der Geburt wird die genetische Information für die Gamma-Kette „stillgeschaltet“ und stattdessen die Beta-Kette gebildet. Dieser Vorgang wird durch das Protein BCL11A reguliert. Hier setzt nun die CRISPR/Cas-gestützte Therapie an. Den Patienten werden blutbildende Stammzellen entnommen. In diesen Zellen wird mittels CRISPR/Cas durch NEJ zielgenau ein Teil des BCL11A-Gens zerstört. Dadurch kann die Umschaltung von der Gamma- auf die Beta-Kette nicht mehr stattfinden. Die so modifizierten Zellen werden den Patienten dann nach einer hochdosierten Chemotherapie zurückgegeben. Sie übernehmen dann die Blutbildung und bilden Hämoglobin mit Gamma- anstatt Beta-Ketten. Dieses Hämoglobin ist voll funktionsfähig und mildert die Krankheitserscheinungen der Sichelzellanämie oder Thalassämie deutlich ab.

Weitere Beispiele für derzeitige klinische Anwendungen der CRISPR/Cas-Technologie sind die Umprogrammierung von Abwehrzellen zur Tumorthherapie und die Behandlung von erblichen Formen der Blindheit.

Insgesamt stellt die CRISPR/Cas-Technologie ein sehr wirkungsvolles neues Werkzeug für die Therapie genetisch bedingter Erkrankungen dar. Sie erlaubt die zielgerichtete Modifikation der genetischen Information und damit die Korrektur von mutierten Genabschnitten oder die Ausschaltung einer unerwünschten Genfunktion. Sie eignet sich dadurch in hervorragender Weise als potentielle Behandlungsmethode von monogenetischen (durch eine einzige Genveränderung hervorgerufene) Erkrankungen. Die Anwendung außerhalb der Keimbahn erscheint



ethisch gut vertretbar. Trotz dieser hoffnungsvollen Ansätze müssen aber weiterhin Anwendungsprobleme gelöst werden: Nicht alle Zellen sind so leicht modifizierbar wie Blutzellen. Wege, die CRISPR/Cas-Genschere an den gewünschten Genort zu bringen, müssen also für andere Organe oder Gewebe neu etabliert werden. Darüber hinaus sind trotz der großen Genauigkeit von CRISPR/Cas Kollateralschäden am Genom nicht auszuschließen, deren potentielle Folgen bedacht werden müssen. Zu beachten ist auch, dass viele Erkrankungen multifaktoriell bedingt sind und Eingriffe ins Genom hier allenfalls ein Baustein einer Therapie sein können. Die Bearbeitung dieser Themen in Grundlagenforschung und Klinik wird Aufgabe der nächsten Jahre sein.